

明 細 書

発明の名称：消毒用組成物

技術分野

[0001] 本発明は、オラネキシジングルコン酸塩を含有する、広範な殺菌スペクトルを有する消毒用組成物に関する。

背景技術

[0002] オラネキシジンは、化学名 1 - (3, 4 - ジクロロベンジル) - 5 - オクチルビグアナイドという高い殺菌活性を有する化合物である。オラネキシジングルコン酸塩は、水への十分な溶解性があり、広い殺菌スペクトルを有し、殺菌効果が短時間で現れ、さらにその活性が長時間持続する上、安全性も高いので、医療用消毒剤として有用である（特許文献 1）。オラネキシジングルコン酸塩を含有する外皮用殺菌消毒剤は、皮膚常在菌とされる各種細菌や、エンベロープウイルスに対しては優れた効力を有する一方で、エンベロープがないネコカリシウイルスに対してはほとんど効力を有しない（非特許文献 1）。そのため、医療や介護、飲食品産業等の分野において、より効力が高く、広範な殺菌スペクトルを有するオラネキシジングルコン酸塩含有消毒剤が求められている。

[0003] オラネキシジンは、ビグアナイド構造を 1 つ有するモノビグアナイド系化合物に属する。同じビグアナイド構造を有する消毒剤としては、ビスビグアナイド系化合物であるクロルヘキシジン、ポリビグアナイド系化合物であるポリヘキサメチレンビグアナイドが代表種として挙げられる。

[0004] クロルヘキシジンは、1 分子中にビグアナイド構造を 2 つ有するビスビグアナイド系化合物である。オラネキシジンと同様に水に難溶であり、グルコン酸塩にすることで可溶となるため、医薬品としては主にクロルヘキシジングルコン酸塩として用いられる（非特許文献 2）。クロルヘキシジングルコン酸塩は、オラネキシジングルコン酸塩と同様に、エンベロープウイルスに対しては殺ウイルス作用を示す一方で、ノンエンベロープウイルスに対して

は効力を有しない（非特許文献3）。また、クロルヘキシジングルコン酸塩は、pH 4～6.5で安定であり、希釈水溶液をpH 8以上の塩基性にする
と沈殿を生じること、pHを上昇させても殺菌効力に差を生じないことが知られている（特許文献2、非特許文献2、非特許文献4）。

[0005] 一方で、ポリヘキサメチレンビグアナイドは、ポリビグアナイド系化合物に分類される、1単位中にビグアナイド構造を1つ有するヘキサメチレンビグアナイドのポリマーである。ポリヘキサメチレンビグアナイドは、水に極めて易溶であり、幅広い殺菌スペクトルを有するため、その弱酸性溶液は、低毒性除菌剤として広く市販されている（非特許文献5、6等）。また、市販のポリヘキサメチレンビグアナイド消毒剤は、ノンエンベロープウイルスに対しても殺ウイルス活性を有することが報告されており（非特許文献7）、さらにpHを上昇させると殺菌効力及び殺ウイルス効力が上昇するとの報告がある（非特許文献4、特許文献3、4）。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特開第2005-289959号公報

特許文献2：特開第2007-217394号公報

特許文献3：特開第2007-045732号公報

特許文献4：特開第2017-171606号公報

非特許文献

[0007] 非特許文献1：添付文書「オラネジン液1.5%消毒用アプリケーション10mL／25mL」（2015年8月改訂）

非特許文献2：医薬品インタビューフォーム「クロルヘキシジングルコン酸塩液」（2010年7月改訂）

非特許文献3：Clin Microbiol Rev.; 12(1): 147-179（1999年1月）

非特許文献4：Skin Pharmacol Physiol.; 28(3): 147-158（2015年）

非特許文献5：Scientific Committee on Consumer Safety “Opinion on the safety of poly(hexamethylene) biguanide hydrochloride (PHMB)”（2

〇 1 5 年 7 月)

非特許文献6: VANTOCIL IB Antimicrobial技術情報資料

非特許文献7: ウェブサイト「Arch Chemicals Reports that Studies Confirm that Vantocil(TM) Product Controls Norovirus, a Leading Cause of Acute Gastroenteritis」 (<https://www.businesswire.com/news/home/20060113005294/en/Arch-Chemicals-Reports-Studies-Confirm-Vantocil-TM>)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明の課題は、安全性の高い外皮用殺菌消毒剤として用いられてきたオラネキシジングルコン酸塩の効力をさらに高め、かつ殺菌スペクトルを拡大することにより、より適用範囲を拡大させた消毒用組成物を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究を続けた。皮膚に適用する組成物は、皮膚のpH（pH 4～7）に合わせて弱酸性であることが一般的であったことや、オラネキシジンが、アルカリ水溶液により中和することで遊離体として析出することから（特許文献1）、従来オラネキシジングルコン酸塩を含有する殺菌剤はpH 5で製剤化されていたが（非特許文献1）、本発明者らは、あえてオラネキシジングルコン酸塩の塩基性溶液を調製し、その活性を試験したところ、予想に反し殺菌効力が高まっただけでなく、弱酸性製剤ではほぼ効力を有しなかったノンエンベロープウイルスに対しても効力が現れることを見いだした。また、本発明者らは、オラネキシジングルコン酸塩を含有する塩基性溶液に、さらに界面活性剤を加えることで安定性が高まることを確認した。本発明は、以上の知見に基づくものである。

[0010] すなわち、本発明は、以下のとおりである。

（1）オラネキシジングルコン酸塩を含有し、塩基性であることを特徴とする消毒用組成物。

（2）pH 8～11の範囲内であることを特徴とする上記（1）に記載の消

毒用組成物。

(3) オラネキシジングルコン酸塩の濃度が、0.01～20% (W/V) であることを特徴とする上記(1)又は(2)に記載の消毒用組成物。

(4) 水及び／又は消毒用アルコールを含むことを特徴とする上記(1)～(3)のいずれかに記載の消毒用組成物。

(5) 消毒用アルコール濃度が、10～85% (V/V) であることを特徴とする上記(4)に記載の消毒用組成物。

(6) 消毒用アルコールが、エタノール及びイソプロピルアルコールから選択されることを特徴とする上記(4)又は(5)に記載の消毒用組成物。

(7) 上記(1)～(6)のいずれかに記載の消毒用組成物を含むラビング剤。

発明の効果

[0011] 本発明の組成物によれば、医療や介護、飲食品産業等の分野において利用可能な、より効力が高く、広範な殺菌スペクトルを有する消毒剤を作製することができる。

図面の簡単な説明

[0012] [図1]実施例1の、オラネキシジングルコン酸塩含有組成物(pH5、8～10)のマイコバクテリウム・フォーチュイタム(*Mycobacterium fortuitum*) JCM6387に対する殺菌力を示す図である。

[図2]実施例1の、オラネキシジングルコン酸塩含有組成物(pH5、8～10)のマイコバクテリウム・ケロネー(*Mycobacterium chelonae*) JCM6388に対する殺菌力を示す図である。

[図3]実施例1の、オラネキシジングルコン酸塩含有組成物(pH5、8～10)のミクロスポルム・カニス(*Microsporum canis*) NBRC32464に対する殺菌力を示す図である。

[図4]実施例2の、オラネキシジングルコン酸塩含有組成物(pH5、7～12)のファージに対する殺ウイルス(ファージ)活性を示す図である。

[図5]実施例3の、エタノール含有オラネキシジン製剤のファージに対する殺

ウイルス（ファージ）活性を示す図である。

発明を実施するための形態

[0013] 本発明は、オラネキシジングルコン酸塩を含有し、塩基性であることを特徴とする消毒用組成物に関する。ここで、塩基性とは、組成物のpHが7を超えるものであればよいが、皮膚への毒性及び殺菌活性に鑑みて、例えばpH7超～12、pH7超～11.5、pH7超～11、pH7超～10.5、pH7超～10、好ましくはpH7.5～12、pH7.5～11.5、pH7.5～11、pH7.5～10.5、pH7.5～10、より好ましくはpH8～11.5、pH8～11、pH8～10.5、pH8～10、さらに好ましくはpH8.5～11.5、pH8.5～11、pH8.5～10.5、pH8.5～10、さらにより好ましくはpH9～12、pH9～11.5、pH9～11、pH9～10.5、pH9～10を挙げることができる。なお、本発明の組成物は水溶液である。また、本明細書において、「消毒」や「殺菌」とは、細菌、真菌及び／又はウイルスを殺滅することを意味する。

[0014] pHの調整には、公知のいかなるpH調節剤を使用することができるが、例えば水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、炭酸アンモニウム、炭酸カリウム等の塩基性溶液を挙げることができ、中でも水酸化ナトリウムを好適に例示することができる。また、本発明の組成物を、塩基性緩衝液を用いて調製してもよく、用いられる緩衝液としては、ホウ酸－炭酸ナトリウム緩衝液、CAPS－NaOH緩衝液、Bicine－NaOH緩衝液、Glicine－NaOH緩衝液、Tricine－NaOH緩衝液、HEPPS－NaOH緩衝液、TAPS－NaOH緩衝液、Bicine－NaOH緩衝液、HEPES－NaOH緩衝液等を例示することができる。

[0015] オラネキシジングルコン酸塩の濃度としては、十分な殺菌効力を有する濃度であれば特に制限されるものではないが、例えば0.01～20%（W／V）、好ましくは0.1～10%（W／V）、より好ましくは0.5～5%

(W/V) を挙げることができる。後述する消毒用アルコールと併用する場合は、例えば0.01～10% (W/V)、好ましくは0.1～7% (W/V)、より好ましくは0.5～5% (W/V)、さらに好ましくは0.5～3% (W/V) を挙げることができる。

[0016] 本発明の組成物は、糸状菌や抗酸菌、特にミクロスポルム属菌、マイコバクテリウム属菌に対して向上した殺菌活性を有する。さらに、従来のオラネキシジングルコン酸塩含有消毒剤では不活化することができなかったノンエンベロープウイルス、特にカリシウイルス科に属するウイルス（ノロウイルス属に属するウイルス等）に対しても、優れた殺ウイルス活性を有する。

[0017] 本発明の組成物は、殺菌活性を増強するためや、速乾性を付与するため、さらに消毒用アルコールを含んでいてもよい。ここで、消毒用アルコールとしては、好ましくはエタノール又はイソプロピルアルコールを挙げることができる。消毒用アルコール濃度としては、例えば10～85% (V/V)、20～85% (V/V)、30～85% (V/V)、40～85% (V/V)、50～85% (V/V)、10～80% (V/V)、20～80% (V/V)、30～80% (V/V)、40～80% (V/V)、50～80% (V/V)、10～70% (V/V)、20～70% (V/V)、30～70% (V/V)、40～70% (V/V)、50～70% (V/V)、を挙げることができる。本発明の組成物は、消毒用アルコールを実質的に含んでいなくてもよい。消毒用アルコールを含むことにより、消毒用アルコールによる殺菌活性の増強効果と、オラネキシジングルコン酸塩による殺菌活性の持続効果とを併せ持つ速乾性消毒剤とすることもできる。さらに、消毒用アルコールにより殺菌活性が増強されるので、オラネキシジングルコン酸塩の濃度を低くすることも可能である。オラネキシジングルコン酸塩と消毒用アルコールの濃度比としては、例えば1：400～1：20、好ましくは1：300～1：30、より好ましくは1：200～1：40を挙げることができる。

[0018] 本発明の組成物には、さらに公知の殺菌剤を配合することができる。殺菌

剤としては、例えば、塩化ベンザルコニウム、アルキルリン酸ベンザルコニウム等のベンザルコニウム塩、塩化ベンゼトニウム、トリクロサン、イソプロピルメチルフェノール、塩化セチルピリジニウム、レゾルシン、トリクロロカルバニド、クロルヘキシジン塩酸塩、クロルヘキシジングルコン酸塩、ポリヘキサメチレンビグアナイド、次亜塩素酸ナトリウム、過酸化水素、ポピドンヨード、ヨードチンキ等が挙げられる。これらの殺菌剤は、単独で配合しても2種類以上を組み合わせ用いてもよい。

[0019] 本発明の組成物は、さらに公知の溶解補助剤を配合することができる。溶解補助剤としては、例えば非イオン性界面活性剤、イオン性界面活性剤、エチレンジアミン、安息香酸ナトリウム、ニコチン酸アミド、シクロデキストリン、エタノール、ベンジルアルコール、プロピレングリコール等を挙げることができる。イオン性界面活性剤としては、オレイルジメチルアミンオキシド、ステアリルジメチルアミンオキシド、パルミチルジメチルアミンオキシド、ミリスチルジメチルアミンオキシド、ラウリルジメチルアミンオキシド、ヤシ油アルキルジメチルアミンオキシド等のアルキルジメチルアミンオキシドを好適に挙げることができ、中でもラウリルジメチルアミンオキシドが好ましい。非イオン性界面活性剤としては、ソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ショ糖脂肪酸エステル等を挙げることができ、中でもポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテルが好ましい。ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコールとしては、ポリオキシエチレン（42）ポリオキシプロピレン（67）グリコール（Pluronic（登録商標）P-123）、ポリオキシエチレン（54）ポリオキシプロピレン（39）グリコール（Pluronic（登録商標）P-85）、ポリオキシエチレン（196）

ポリオキシプロピレン（６７）グリコール（Pluronic（登録商標）F-127）、ポリオキシエチレン（３）ポリオキシプロピレン（１７）グリコール（Pluronic（登録商標）L-31）、ポリオキシエチレン（２０）ポリオキシプロピレン（２０）グリコール（Pluronic（登録商標）L-44）、ポリオキシエチレン（１２０）ポリオキシプロピレン（４０）グリコール（Pluronic（登録商標）F-87）、ポリオキシエチレン（１６０）ポリオキシプロピレン（３０）グリコール（Pluronic（登録商標）F-68）を例示することができ、中でもポリオキシエチレン（２０）ポリオキシプロピレン（２０）グリコール（Pluronic（登録商標）L-44）が好ましい。ポリオキシエチレンアルキルエーテルとしては、ポリオキシエチレンセチルエーテル、ポリオキシエチレンオレイルエーテル、ポリオキシエチレンラウリルエーテル（ラウロマクロゴール）等が挙げられるが、特にポリオキシエチレンラウリルエーテル（ラウロマクロゴール）が好ましい。また、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテルとしては、ポリオキシエチレン（２０）ポリオキシプロピレン（４）セチルエーテル、ポリオキシエチレン（３０）ポリオキシプロピレン（６）デシルテトラデシルエーテル、ポリオキシエチレン（２５）ポリオキシプロピレン（２５）ラウリルエーテル等が挙げられるが、特にポリオキシエチレン（２０）ポリオキシプロピレン（４）セチルエーテルが好ましい。溶解補助剤の濃度は、オラネキシジングルコン酸塩の沈殿を防ぎ、かつ殺菌活性を低下させない濃度であればよく、通常０．１～３０％（W/V）の濃度範囲で、オラネキシジングルコン酸塩の濃度に応じて設定される。

[0020] 本発明の組成物は、任意で抗炎症剤、保湿剤、エモリエント剤、感触改善剤、増粘剤等を含んでもよい。

[0021] 抗炎症剤としては、例えば、甘草エキス、グリチルレチン酸、グリチルリチン酸ジカリウム、グリチルレチン酸ステアリル、酢酸トコフェロール、アラントイン、及びアロエエキス等を挙げることができる。

[0022] 保湿剤としては、例えば、アミノ酸、脂肪酸エステル、ピロリドンカルボ

ン酸、ピロリドンカルボン酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸ナトリウム、N-ココイル-L-アルギニンエチルエステルD-L-ピロリドンカルボン酸塩、尿素、ソルビトール、トレハロース、1,3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、ポロキサマー（Pluronic（登録商標）F-68等）、及びグリセリン等を挙げることができる。

[0023] エモリエント剤としては、例えば、ミリスチン酸イソプロピル、パルミチン酸イソプロピル、ステアリン酸イソプロピル、オレイン酸イソブチル、及びマレイン酸イソブチル等の脂肪酸エステルを挙げることができ、これら1種単独で又は2種以上含むことができる。

[0024] 感触改善剤としては、例えば、ジメチルポリシロキサン、及び環状シリコーン等のシリコーン系化合物を挙げることができる。

[0025] 増粘剤としては、例えばヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、疎水化ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース及びカルボキシメチルセルロース等のセルロース誘導体、（メタ）アクリル酸系共重合体、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、メチルビニルエーテル無水マレイン酸共重合体、ポリアクリルアミド、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸プロピレングリコールエステル、ゼラチン、アラビアゴム、トラガントゴム、ローカストビーンガム、グアガム、タマリンドガム、キサンタンガム、ジェランガム、及びカラギーナン等を挙げることができる。

[0026] 本発明の組成物は、好ましくは医療器具、調理器具、介護器具等の物品表面や、手指等の皮膚外表面の消毒のための用途に用いることができる。本発明の組成物は、紙、布、不織布、綿棒、脱脂綿等の基材に含ませて用いても、塗布用のアプリケーションに充填して用いても、ラビング剤やスクラブ剤として用いてもよいが、好ましくは本発明の組成物はラビング剤として用いられる。ここで、ラビング剤とは、速乾性擦式製剤を意味し、スクラブ剤とは、殺菌・消毒剤と洗浄能力をもつ界面活性剤とを混ぜ合わせた製剤を意味す

る。なお、本発明の組成物を両手の手指の消毒に用いる場合、1回あたりの使用量は1～5 ml、好ましくは1.5～4.5 ml、より好ましくは2～4 ml、さらに好ましくは2.5～3.5 mlで通常用いられ、1日の使用回数は、皮膚毒性に鑑み100回以内、好ましくは80回以内、より好ましくは60回以内、さらに好ましくは40回以内を挙げることができる。

[0027] 以下、実施例により本発明をより具体的に説明するが、本発明の技術的範囲はこれらの例示に限定されるものではない。

実施例 1

[0028] 1. 真菌及び非結核性抗酸菌に対する殺菌力

オラネキシジングルコン酸塩含有組成物（pH 5、8～10）の、感染症を引き起こすことが知られている糸状真菌及び非結核性抗酸菌に対する殺菌力をTime-kill試験により評価した。

[0029] 1-1 試験材料及び方法

1-1-1 試験物質

(1) 被験物質 1

名称：オラネキシジン製剤 pH 5

組成：オラネキシジングルコン酸塩 1.5% (W/V)

Pluronic L-44 1.08% (W/V)

pH調整剤（水酸化ナトリウム、グルコノ-δ-ラクトン） 適量

純水 適量

pH 5

(2) 被験物質 2

名称：オラネキシジン製剤 pH 8

組成：オラネキシジングルコン酸塩 1.5% (W/V)

Pluronic L-44 1.08% (W/V)

HEPES 0.1% (W/V)

pH調整剤（水酸化ナトリウム、グルコノ-δ-ラクトン） 適量

純水 適量

pH 8

(3) 被験物質 3

名称 : オラネキシジン製剤 pH 9

組成 : オラネキシジングルコン酸塩 1.5% (W/V)

Pluronic L-44 4.08% (W/V)

グリシン 0.1% (W/V)

pH調整剤 (水酸化ナトリウム、グルコノ- δ -ラクトン) 適量

純水 適量

pH 9

(4) 被験物質 4

名称 : オラネキシジン製剤 pH 10

組成 : オラネキシジングルコン酸塩 1.5% (W/V)

Pluronic L-44 16.08% (W/V)

グリシン 0.1% (W/V)

pH調整剤 (水酸化ナトリウム、グルコノ- δ -ラクトン) 適量

純水 適量

pH 10

(5) 対照物質

名称 : 基剤 pH 10

組成 : Pluronic L-44 1.08% (W/V)

グリシン 0.1% (W/V)

pH調整剤 (水酸化ナトリウム、グルコノ- δ -ラクトン) 適量

純水 適量

pH 10

[0030] 1-1-2 培地

(1) 7H10 平板

Difco Middlebrook 7H10 Agar (製品番号 : 262710、Becton, Dickinson and Company社製) 19g に、グリセロール (製品番号 : 070-049

4 1、和光純薬工業株式会社製) 5 mL 及び純水 900 mL を加え、攪拌した。これを高圧蒸気滅菌 (121℃、20分) した。滅菌後、高圧蒸気滅菌器から取り出し、攪拌しながら 50～55℃になるまで冷却した後、BBL Middlebrook OADC Enrichment (製品番号: 212240、Becton, Dickinson and Company社製) 100 mL を加えて攪拌した。寒天が固まる前に、シャーレに約 20 mL ずつ分注し、固化させた。

(2) SAB 平板

サブロー寒天培地「ニッスイ」(製品番号: 05701、日水製薬株式会社製) 65 g に純水 1000 mL を加え攪拌した。これを高圧蒸気滅菌 (121℃、20分) した。寒天が固まる前に、シャーレに約 20 mL ずつ分注し、固化させた。

(3) SABL P 平板

サブロー・ブドウ糖 LP カンテン培地「ダイゴ」(製品コード: 392-01875、日本製薬株式会社製) 73 g に純水 1000 mL を加え攪拌した。これを高圧蒸気滅菌 (121℃、20分) した。寒天が固まる前に、シャーレに約 20 mL ずつ分注し、固化させた。

[0031] 1-1-3 中和剤

蒸留水約 800 mL に、ポリソルベート 80 100 g、チオ硫酸ナトリウム水和物 5.0 g、リン酸二水素カリウム 0.4 g、Triton X-100 1 mL、無水リン酸一水素ナトリウム 10.1 g 及び大豆レシチン 11.7 g を加え、攪拌した。さらに、Tamol (登録商標) NN8906 10.0 g を加え、溶解するまで加熱及び攪拌を行った。溶解後、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加え、pH 7.8～7.9 に調整した。全量が 1000 mL となるまで蒸留水を加えた後、高圧蒸気滅菌を行った。

[0032] 1-1-4 試験菌

試験菌として、糸状菌ミクロスポルム・カニス (*Microsporium canis*) NB RC32464、並びに抗酸菌マイコバクテリウム・ケロネー (*Mycobacterium chelonae*) JCM6388 及びマイコバクテリウム・フォーチュイタム (

Mycobacterium fortuitum) JCM 6387を用いた。それぞれの試験菌は、7H10平板（マイコバクテリウム・ケロネー及びマイコバクテリウム・フォーチュイタム）又はSAB平板（ミクロスポルム・カニス）での培養後に蒸留水に懸濁し、McFarland No. 1（マイコバクテリウム・ケロネー及びマイコバクテリウム・フォーチュイタム）又はMcFarland No. 5（ミクロスポルム・カニス）の試験菌液を調製した。

[0033] 1-2 殺菌力評価試験

1-2-1 初期生菌数の測定（マイコバクテリウム・ケロネー及びマイコバクテリウム・フォーチュイタム）

（1）蒸留水3 mLに試験菌液150 μ Lを加え、混合した。

（2）直ちに、菌混合液50 μ Lを中和剤4.95 mLへ加え、混合した。これを10²倍希釈液とした。

（3）10²倍希釈液0.3 mLを中和剤2.7 mLに加えて10倍希釈した。さらに同様の操作により希釈を繰り返して10倍希釈系列（10²～10⁴倍希釈液までの計3段階）を作製した。

（4）10²～10⁴倍希釈液を100 μ Lずつ7H10平板に分注し、塗抹した。（2）から（4）の工程は、30分以内に行った。

（5）塗抹平板を倒置し、コロニー計数が可能となるまで培養した。

（6）塗抹平板で増殖したコロニーを目視で計数し、コロニー数に希釈倍数を乗じ生菌数（CFU/mL）を算出した。ただし、コロニー数が多すぎてコロニー間の区別ができない塗抹平板は、TNTC（too numerous to count）とし計数しなかった。

[0034] 1-2-2 試験物質作用後の生菌数の測定（マイコバクテリウム・ケロネー及びマイコバクテリウム・フォーチュイタム）

（1）試験物質3 mLに試験菌液150 μ Lを加え、混合した。これを反応液とし、反応は室温で行った。

（2）所定の時間反応させた後、反応液50 μ Lを抜き取り、中和剤4.95 mLへ加え、混合した。これを10²倍希釈液とした。

(3) 10^2 倍希釈液0.3 mLを中和剤2.7 mLに加えて10倍希釈した。さらに同様の操作により希釈を繰り返して10倍希釈系列($10^2 \sim 10^4$ 倍希釈液までの計3段階)を作製した。

(4) $10^2 \sim 10^4$ 倍希釈液を100 μ Lずつ7H10平板に分注し、塗抹した。

(5) 塗抹平板を倒置し、コロニー計数が可能となるまで培養した。

(6) 塗抹平板で増殖したコロニーを目視で計数し、コロニー数に希釈倍数を乗じ生菌数(CFU/mL)を算出した。

[0035] 1-2-3 初期生菌数の測定(ミクロスポルム・カニス)

(1) 蒸留水3 mLに試験菌液150 μ Lを加え、混合した。

(2) 直ちに、菌混合液500 μ Lを中和剤4.5 mLへ加え、混合した。これを 10^1 倍希釈液とした。

(3) 10^1 倍希釈液0.3 mLを中和剤2.7 mLに加えて10倍希釈した。さらに同様の操作により希釈を繰り返して10倍希釈系列($10^1 \sim 10^3$ 倍希釈液までの計3段階)を作製した。

(4) $10^1 \sim 10^3$ 倍希釈液を100 μ LずつSABLP平板に分注し、塗抹した。(2)から(4)の工程は、30分以内に行った。

(5) 塗抹平板を倒置し、コロニー計数が可能となるまで培養した。

(6) 塗抹平板で増殖したコロニーを目視で計数し、コロニー数に希釈倍数を乗じ生菌数(CFU/mL)を算出した。ただし、コロニー数が多すぎてコロニー間の区別ができない塗抹平板は、TNTCとし計数しなかった。

[0036] 1-2-4 試験物質作用後の生菌数の測定(ミクロスポルム・カニス)

(1) 試験物質3 mLに試験菌液150 μ Lを加え、混合した。これを反応液とし、反応は室温で行った。

(2) 所定の時間反応させた後、反応液500 μ Lを抜き取り、中和剤4.5 mLへ加え、混合した。これを 10^1 倍希釈液とした。

(3) 10^1 倍希釈液0.3 mLを中和剤2.7 mLに加えて10倍希釈した。さらに同様の操作により希釈を繰り返して10倍希釈系列($10^1 \sim 10^3$

倍希釈液までの計3段階)を作製した。

(4) $10^1 \sim 10^3$ 倍希釈液を $100 \mu\text{L}$ ずつ S A B L P 平板に分注し、塗抹した。

(5) 塗抹平板を倒置し、コロニー計数が可能となるまで培養した。

(6) 塗抹平板で増殖したコロニーを目視で計数し、コロニー数に希釈倍数を乗じ生菌数 (C F U / m L) を算出した。

[0037] 1-2-5 Log_{10} reduction (L R) の計算式

$$\text{L R} = \text{A} - \text{B}$$

A : 初期生菌数 (常用対数値) の平均値

B : 各試験物質作用後の生菌数 (常用対数値)

マイコバクテリウム・ケロネー及びマイコバクテリウム・フォーチュイタムでは、反応液と中和剤の混合の割合が 1 : 99 であり、塗抹量が $100 \mu\text{L}$ であるため、生菌数の検出下限値は $1000 \text{ C F U} / \text{m L}$ (常用対数値では 3) となる。また、ミクロスポルム・カニスでは、反応液と中和剤の混合の割合が 1 : 9 であり、塗抹量が $100 \mu\text{L}$ であるため、生菌数の検出下限値は $100 \text{ C F U} / \text{m L}$ (常用対数値では 2) となる。コロニーが検出されなかった場合、検出下限値を採用し、L R は不等号「>」を付けて表示した。

[0038] 1-3 結果

結果を下記の表 1 ~ 3 及び図 1 ~ 3 に示す。

[0039] [表1]

抗酸菌 *Mycobacterium fortuitum* JCM 6387 に対する殺菌力

試験物質	Log_{10} reduction (mean $\pm$ SD)		
	5 分 (n = 3)	10 分 (n = 6)	15 分 (n = 3)
オラネキシジン製剤 pH 5	0.83 $\pm$ 0.24	1.28 $\pm$ 0.33	1.94 $\pm$ 0.26
オラネキシジン製剤 pH 8	2.08 $\pm$ 0.38	3.18 $\pm$ 0.25	3.40 $\pm$ 0.00
オラネキシジン製剤 pH 9	2.18 $\pm$ 0.28	2.51 $\pm$ 0.16	3.06 $\pm$ 0.60
オラネキシジン製剤 pH 10	1.67 $\pm$ 0.24	2.13 $\pm$ 0.30	2.51 $\pm$ 0.55
基剤 pH 10	0.00 $\pm$ 0.02	0.02 $\pm$ 0.15	0.06 $\pm$ 0.13

[0040]

[表2]

抗酸菌 *Mycobacterium chelonae* JCM 6388 に対する殺菌力

試験物質	Log ₁₀ reduction (mean ± SD, n = 3)		
	5 分	10 分	15 分
オラネキシジン製剤 pH 5	0.12 ± 0.38	0.24 ± 0.32	0.62 ± 0.53
オラネキシジン製剤 pH 8	1.62 ± 0.65	2.02 ± 0.55	2.24 ± 0.17
オラネキシジン製剤 pH 9	0.68 ± 0.40	1.00 ± 0.24	2.24 ± 0.17
オラネキシジン製剤 pH 10	0.08 ± 0.10	0.53 ± 0.42	0.94 ± 0.22
基剤 pH 10	-0.37 ± 0.23	-0.09 ± 0.22	-0.17 ± 0.20

[0041] [表3]

糸状真菌 *Microsporum canis* NBRC 32464 に対する殺菌力

試験物質	Log ₁₀ reduction (mean ± SD, n = 3)		
	15 秒	30 秒	60 秒
オラネキシジン製剤 pH 5	0.29 ± 0.04	0.44 ± 0.03	0.86 ± 0.05
オラネキシジン製剤 pH 8	2.23 ± 0.35	> 2.57	> 2.57
オラネキシジン製剤 pH 9	2.47 ± 0.17	> 2.57	> 2.57
オラネキシジン製剤 pH 10	2.23 ± 0.35	2.37 ± 0.35	> 2.57
基剤 pH 10	-0.07 ± 0.04	0.02 ± 0.06	0.07 ± 0.03

[0042] 以上の結果より、いずれの試験菌でも、オラネキシジン製剤 pH 5 よりもオラネキシジン製剤 pH 8～10 の殺菌力が強いことが明らかになった。なお、オラネキシジン製剤 pH 8 よりもオラネキシジン製剤 pH 10 で殺菌力が低下しているが、溶解補助剤として添加した Pluronic L-44 により活性が阻害されたためだと考えられる。

実施例 2

[0043] 2. オラネキシジン製剤のバクテリオファージ MS 2 に対する作用

バクテリオファージ MS 2 は消毒剤に対する感受性が低いことが知られており、消毒剤の殺ノロウイルス作用などの代替試験に使用されている。そこで、pH を変化させて調製したオラネキシジン製剤及び市販の消毒剤のウイルスに対する殺ウイルス効果を、バクテリオファージ MS 2 を用いた試験により評価した。

[0044] 2-1 試験材料及び方法

2-1-1 試験物質

(1) 被験物質 1

名称：オラネキシジン製剤 pH 5

組成：オラネキシジングルコン酸塩 1.5% (W/V)

Pluronic L-44 1.08% (W/V)

pH調整剤（水酸化ナトリウム、グルコノ- δ -ラクトン） 適量

純水 適量

pH 5

(2) 被験物質 2

名称：オラネキシジン製剤 pH 7

組成：オラネキシジングルコン酸塩 1.5% (W/V)

Pluronic L-44 1.08% (W/V)

HEPES 0.1% (W/V)

pH調整剤（水酸化ナトリウム、グルコノ- δ -ラクトン） 適量

純水 適量

pH 7

(3) 被験物質 3

名称：オラネキシジン製剤 pH 8

組成：オラネキシジングルコン酸塩 1.5% (W/V)

Pluronic L-44 1.08% (W/V)

HEPES 0.1% (W/V)

pH調整剤（水酸化ナトリウム、グルコノ- δ -ラクトン） 適量

純水 適量

pH 8

(4) 被験物質 4

名称：オラネキシジン製剤 pH 8.5

組成：オラネキシジングルコン酸塩 1.5% (W/V)

Pluronic L-44 1.08% (W/V)

L-ヒスチジン 0.1% (W/V)

pH調整剤（水酸化ナトリウム、グルコノ- δ -ラクトン） 適量

純水 適量

pH 8.5

（5）被験物質5

名称：オラネキシジン製剤 pH 9

組成：オラネキシジングルコン酸塩 1.5% (W/V)

Pluronic L-44 4.08% (W/V)

グリシン 0.1% (W/V)

pH調整剤（水酸化ナトリウム、グルコノ- δ -ラクトン） 適量

純水 適量

pH 9

（6）被験物質6

名称：オラネキシジン製剤 pH 9.5

組成：オラネキシジングルコン酸塩 1.5% (W/V)

Pluronic L-44 10.08% (W/V)

グリシン 0.1% (W/V)

pH調整剤（水酸化ナトリウム、グルコノ- δ -ラクトン） 適量

純水 適量

pH 9.5

（7）被験物質7

名称：オラネキシジン製剤 pH 10

組成：オラネキシジングルコン酸塩 1.5% (W/V)

Pluronic L-44 16.08% (W/V)

グリシン 0.1% (W/V)

pH調整剤（水酸化ナトリウム、グルコノ- δ -ラクトン） 適量

純水 適量

pH 10

（8）被験物質8

名称：オラネキシジン製剤 pH 12

組成：オラネキシジングルコン酸塩 1.5% (W/V)

Pluronic L-44 26.08% (W/V)

L-アルギニン 0.1% (W/V)

pH調整剤（水酸化ナトリウム、グルコノ- δ -ラクトン） 適量

純水 適量

pH 12

(9) 対照物質

名称／略称：消毒用エタノール「ケンエー」／70% EtOH

製造販売元：健栄製薬株式会社

組成：エタノール (C_2H_6O) を 76.9~81.4% (V/V) 含有する。

[0045] 2-1-2 培地

(1) 702液体培地

純水 1 L に Polypepton 10 g、Yeast extract 2 g、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 g を加え、高圧蒸気滅菌 (121℃、20分) した。

(2) 軟寒天培地

純水 0.5 L に Polypepton 5 g、Yeast extract 1 g、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g、培地用寒天 3.5 g を加え、高圧蒸気滅菌 (121℃、20分) した。

(3) 寒天平板

トリプトソーヤ寒天培地 (SCD寒天培地) 「ニッスイ」 64 g に純水 1.6 L を加え、攪拌した。これを高圧蒸気滅菌 (121℃、20分) した。寒天が固まる前に、シャーレに約 20 mL ずつ分注し、固化させた。

[0046] 2-1-3 中和剤

蒸留水 約 800 mL に、ポリソルベート 80 100 g、チオ硫酸ナトリウム水和物 5.0 g、リン酸二水素カリウム 0.4 g、Triton X-

100 1 mL、無水リン酸一水素ナトリウム 10.1 g 及び大豆レシチン 11.7 g を加え、攪拌した。さらに、Tamol（登録商標）NN8906 10.0 g を加え、溶解するまで加熱及び攪拌を行った。溶解後、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加え、pH 7.8~7.9 に調整した。全量が 1000 mL となるまで蒸留水を加えた後、高圧蒸気滅菌を行った。

[0047] 2-1-4 バクテリオファージ及び宿主

(1) バクテリオファージ

名称／略称：Escherichia coli phage MS2／MS2 ファージ

入手先：独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター（NBRC）

NBRC 番号：102619

(2) 宿主

名称／略称：Escherichia coli (Migula 1895) Castellani and Chalmers 1919／E. coli NBRC13965

入手先：NBRC

NBRC 番号：13965

[0048] 2-2 試験方法

2-2-1 宿主

カジトン培地に保存した E. coli NBRC13965 を 702 液体培地 5 mL × 4 本へ接種し、35℃で一晩振とう培養した。これを 702 液体培地 180 mL へ加え、さらに 3 時間、振とう培養したものを宿主培養液とした。

[0049] 2-2-2 ファージ液

ファージ液は、常法に従い、約 6×10^{12} PFU/mL に調製したものを使用した。

[0050] 2-2-3 殺ウイルス（ファージ）試験

(1) 試験物質 475 µL にファージ液 25 µL を加えた。また、対照作用液として蒸留水 475 µL にファージ液 25 µL 加えた。

(2) 室温で30秒、1分及び3分間作用させた。対照作用液の作用時間は約3分のみとした。

(3) 作用後、作用液50 μ Lを採取し、中和剤450 μ Lに加えて攪拌した。これを10¹倍希釈液とした。

(4) 各10¹倍希釈液20 μ Lを中和剤180 μ Lに加えて攪拌した。これを10²倍希釈液とした。同様の希釈操作を繰り返し、10⁹倍までの10倍段階希釈液を作製した。

(5) 10²～10⁹倍段階希釈液100 μ Lに、宿主培養液0.2 mLを加え、攪拌した。約47℃で保存した軟寒天培地約5 mLを加え、穏やかに攪拌後、寒天平板上に重層した。

(6) 軟寒天培地が固化した後、35℃で一晩培養した。

(7) 生じたプラーク数を計数した。

(8) 加重平均法〔下記(式1)〕により力価($\log_{10}$ PFU/mL)を算出した。また、 $\log_{10}$ reductionを算出した。

[0051] 2-2-5 データ解析

(1) ファージ力価

ファージ力価は、次式(式1)で計算した。

$$\text{PFU}/t = (\sum c_1 + c_2 + \dots + c_n) \div ((n_1 + n_2 \times \nu_2 + \dots + n_n \times \nu_n) \times d) \quad \dots\dots\dots (式1)$$

t : 平板へ加えた希釈液量 (本試験では0.1 mL)

c₁ : 計数可能で最も小さい希釈倍数のすべて平板のプラーク数の合計

c₂ : c₁の次の希釈倍数のすべて平板のプラーク数の合計

c_n : 最も大きい希釈倍数のすべて平板のプラーク数の合計

n₁ : c₁の平板数

n₂ : c₂の平板数

ν_2 : c₁とc₂の希釈倍数の比 (本試験では10⁻¹)

n_n : c_nの平板数

ν_n : c₁とc_nの希釈倍数の比

d : c_1 の希釈倍数

力価 (PFU/mL) を常用対数変換 ($\log_{10} \text{PFU/mL}$) し、四捨五入により小数第 1 位まで表示した。力価 (PFU/mL) が 1 以下の場合、その常用対数値を 0 とした。

[0052] (2) $\log_{10} \text{reduction}$ (LR)

殺ウイルス (ファージ) 作用は、 $\log_{10} \text{reduction}$ 値により評価した。

$$LR = A - B$$

A : 対照作用液ファージ力価 (常用対数値) の平均値

B : 各試験物質作用後のファージ力価 (常用対数値)

LR は、四捨五入により小数第 1 位まで表示した。なお、試験物質作用後の力価 (常用対数値) が 0 の場合、ファージ力価の検出下限値が $3 - \log_{10}$ であることから、LR を「 $> (A - 3)$ 」で表した。

[0053] 2-3 結果

試験物質の殺ウイルス作用の評価結果を表 4 及び図 4 に示した。

[0054] [表 4]

試験物質の殺ファージ作用

試験物質	$\log_{10} \text{reduction}$		
	30 秒	60 秒	180 秒
オラネキシジン製剤 pH 5	0.6	0.9	1.2
オラネキシジン製剤 pH 7	1.6	2	3
オラネキシジン製剤 pH 8	2.3	3.1	4.3
オラネキシジン製剤 pH 8.5	3	3.6	5
オラネキシジン製剤 pH 9	3.1	4	5.3
オラネキシジン製剤 pH 9.5	3.4	4	4.5
オラネキシジン製剤 pH 10	3	4.1	5.2
オラネキシジン製剤 pH 12	7.6	8.5	>8.5
70% EtOH	1.9	2.9	3.9

[0055] pH 5 のオラネキシジン製剤は、ほぼ殺ウイルス作用を示さず、pH 7 のオラネキシジン製の殺ウイルス作用は対照物質として用いた 70% エタノールと同等であったのに対し、pH を塩基性に変化させたオラネキシジン製剤では pH が高いほど LR が大きい傾向がみられた。pH 8 以上の製剤では、

60秒でのLRが3以上、pH8.5以上の製剤では、30秒でのLRが3以上となり、理想的な消毒剤の殺ウイルス作用の要件であるLR3以上を満たした。したがって、オラネキシジングルコン酸塩の塩基性溶液は実用性のある殺ウイルス活性を持ち、pHが高いほど、その殺ウイルス活性は強くなることが明らかになった。

実施例 3

[0056] 3. エタノール含有塩基性オラネキシジン製剤のバクテリオファージMS2に対する作用

本実施例では、塩基性オラネキシジン製剤に対する、消毒用アルコールによる速乾性付与効果及び殺菌活性の増強効果を確認することを目的として、pH9.5の塩基性オラネキシジン製剤にエタノールを添加し、バクテリオファージMS2を用いた試験により殺ウイルス効果を評価した。

[0057] 3-1 試験物質

以下の表5の組成により、被験物質1～3、比較例1、及び基剤（対照物質）を調製した。

[0058] [表5]

成分	分量(g/100mL中)				
	被験物質1	被験物質2	被験物質3	比較例1	基剤
オラネキシジングルコン酸塩	1.5	1	0.5	1.5	—
Pluronic L-44	1.08	0.72	0.36	1.08	1.08
ベンジルアルコール	3.5	3.5	3.5	—	3.5
ヘキシルデカノール	0.01	0.01	0.01	—	0.01
Pluronic F-68	1	1	1	—	1
グリチルレチン酸	0.1	0.1	0.1	—	0.1
グリシン	0.1	0.1	0.1	—	0.1
グルコノ- δ -ラクトン	適量	適量	適量	—	適量
水酸化ナトリウム	適量	適量	適量	—	適量
エタノール	70	77	83	70	70
精製水	適量	適量	適量	適量	適量
pH	9.5	9.5	9.5	6.89	9.5

[0059] また、以下の消毒用エタノールを、対照として用いた。

名称：消毒用エタノール「ケンエー」

製造販売元：健栄製薬株式会社

組成：エタノール（ C_2H_6O ）を76.9～81.4%（V/V）含有する。

[0060] 3-2 試験方法

殺ウイルス効果は、上記実施例2の2-1及び2-2に記載のバクテリオファージMS2を用いた方法により評価した。なお、ファージ液は、約 4×10^{12} PFU/mLに調製したものを使用した。

[0061] 3-3 結果

試験物質の殺ウイルス作用の評価結果を表6及び図5に示した。

[0062] [表6]

試験物質	Log ₁₀ reduction	
	30 秒	60 秒
被験物質1 (オラネキシジングルコン酸塩1.5%)	6	6.7
被験物質2 (オラネキシジングルコン酸塩1.0%)	5.2	5.8
被験物質3 (オラネキシジングルコン酸塩0.5%)	4.4	5
比較例1 (オラネキシジングルコン酸塩1.5%、pH6.89)	2.6	3.5
基剤	3.8	4.5
消毒用エタノール	2.2	3.4

[0063] 上記の結果より、エタノールを含有する塩基性オラネキシジン製剤においても、オラネキシジングルコン酸塩の濃度依存的に殺ウイルス作用が上昇することが示され、速乾性付与のためにエタノールを添加しても、オラネキシジングルコン酸塩による殺ウイルス作用が妨げられないことが示された。さらに、エタノールを含有する塩基性オラネキシジン製剤は、エタノールを含有していない塩基性オラネキシジン製剤と比較して殺ウイルス作用が高いため、オラネキシジングルコン酸塩濃度を低下させた場合にも、実用性のある殺ウイルス作用を呈することが示された。また、pHが7未満であるエタノール含有オラネキシジン製剤（比較例1）では実用性のある殺ウイルス活性（LR3以上）が見られなかったことから、エタノールを含有する塩基性オラネキシジン製剤では、オラネキシジングルコン酸塩、エタノール、塩基性

が相乗的に殺ウイルス作用に寄与していることが示唆された。なお、本実施例において、Pluronic F-68は肌荒れ低減や保湿等のために添加したものであり、Pluronic F-68が0.5 g/100 mLとした場合にも効力に差は見られなかった。

産業上の利用可能性

[0064] 本発明の組成物を用いることで、改善した殺菌スペクトルを有し、かつノンエンベロープウイルスに対しても効力を有するオラネキシジングルコン酸塩含有消毒剤を作製することができるため、医療や介護、飲食品産業等の分野における産業上の有用性は高い。

請求の範囲

- [請求項1] オラネキシジングルコン酸塩を含有し、塩基性であることを特徴とする消毒用組成物。
- [請求項2] p H 8 ～ 1 1 の範囲内であることを特徴とする請求項 1 に記載の消毒用組成物。
- [請求項3] オラネキシジングルコン酸塩の濃度が、0. 0 1 ～ 2 0 % (W / V) であることを特徴とする請求項 1 又は 2 に記載の消毒用組成物。
- [請求項4] 水及び／又は消毒用アルコールを含むことを特徴とする請求項 1 ～ 3 のいずれかに記載の消毒用組成物。
- [請求項5] 消毒用アルコール濃度が、1 0 ～ 8 5 % (V / V) であることを特徴とする請求項 4 に記載の消毒用組成物。
- [請求項6] 消毒用アルコールが、エタノール及びイソプロピルアルコールから選択されることを特徴とする請求項 4 又は 5 に記載の消毒用組成物。
- [請求項7] 請求項 1 ～ 6 のいずれかに記載の消毒用組成物を含むラビング剤。